

人型結核菌体抽出多糖体成分 (S.S.M.: 丸山ワクチン) の抗癌作用に関する研究

高濃度 S.S.M. (100 倍濃度多糖体成分) とヒト癌細胞
double xenografts におけるコラーゲン増殖について

川崎医科大学 実験病理

木 本 哲 夫

(昭和60年4月13日受付)

Responses and Protective Proliferation of Stromal Collagen against Cancer in Double Xenografts Due to Highly Concentrated SSM (100 times: Special Substance, Maruyama)

Tetsuo Kimoto

Department of Pathology, Kawasaki Medical School

(Accepted on April 13, 1985)

T-細胞を欠除したヌードマウスへヒト癌細胞を移植して長期間 SSM 注射をおこなうと癌間質に由来する collagen 増殖が促進され著しい癌増殖の抑制がみられる。本実験では同一個体にそれぞれ母細胞を異にしたヒト癌細胞 HGC, HLC やマウス由来の NB41A3 細胞を移植し double grafts を作製して、腫瘍細胞に反応する担癌体の collagen 反応と増殖を比較した。その結果、collagen 反応様式の基本は個体の免疫基盤に左右されるよりも癌細胞自身に依存していることをさらに明らかにすることができた。今回使用した SSM は従来ヒトの治療に使用されている SSM-A ($2\mu\text{g}/\text{ml}$ 多糖体)のほかに 100 倍高濃度液 ($200\mu\text{g}/\text{ml}$ 多糖体)を使用した。その結果、collagen 増殖はさらに促進され SSM-A では著効の見られなかった HLC xenograft でも著しい collagen 増殖がおり、癌細胞の封じ込めも著しかった。濃度のほかに SSM 注射時期も重要で、早期使用ほど有効であった。また、高濃度液といえども全く副作用はみられなかった。なお、肺癌移植の場合、高濃度注射により一部の腺癌は扁平上皮細胞への化生がみられた。以上の所見からヒト型結核菌体多糖体の抗癌への作用機序は腫瘍間質からの collagen 増殖促進が本質的なもので癌の母細胞の種類によって異なるが、腫瘍間質の少ない腫瘍では効が少なかった。この SSM と collagen 増殖との因果関係については、結核菌体多糖体が直接 collagen の生合成に利用されるのか、副作用なく長期間使用可能なために、担癌個体の低下した免疫能を正常に復する結果、修復機転の回復促進が起こるのか、また、癌細胞が放出する Immunosuppressor acidic protein 等の減少を起こすことによって担癌体の免疫基盤の

正常化により、癌破壊組織の修復が促進されるかなど、**collagen** 増殖が **SSM** の間接的作用によるのか今後の癌治療への重要な課題を提供した。

既報の乳癌第 II 症例 (50歳) は昭和54年43歳の時骨盤内転移を発見し、長年腰椎転移を認めているが、現在 (昭和60年4月) 生存加療中で、昭和58年1月に膣部の転移巣の脱落を認め生検組織で、癌転移組織は線維化消失を起こしながら増殖していた。

It is well known that the polysaccharides of human-type *Mycobacterium tuberculosis* (SSM) have few side effects and that they may inhibit the growth of human cancer when administered for an extended period of time. Of most importance, SSM has been shown to stimulate collagen proliferation from the cancer-associated stromal tissue which confines cancer. To elucidate the proliferative responses of collagen in cancer, double xenografts were prepared by simultaneous transplantation of human gastric cancer (HGC) and human lung cancer (HLC), HGC and NB41A3 (mouse neuroblastoma), and HLC and NB41A3 into nude mice. Although collagen responses were dependent on the type of cancer cell, SSM clearly stimulated the proliferation of the collagen fibers which respond to the cancer cells.

SSM in a highly concentrated solution (100 times SSM-A: 200 μ g/ml polysaccharides) had a more remarkable effect than a diluted solution (SSM-A) on the proliferation of collagen as well as on the differentiation of adenocarcinoma in cases of HLC. Metaplastic change to squamous cells was found after treatment with the highly concentrated solution.

Key Words ① Concentrated SSM ② Double xenografts ③ Collagenation to cancer

はじめに

末期乳癌患者への SSM 注射で、著しい延命効果、特に、癌性潰瘍の治癒、癌間質のコラーゲン増殖に由来する癌細胞増殖の抑制が見られることや、動物実験でヒトの胃癌細胞 (未分化癌)、肺癌 (腺癌) を移植したヌードマウスの xenografts における SSM の抗癌作用に関する研究の一端を報告してきた。その結果、生体内でひとたび免疫監視機構を逸脱して増殖を開始した癌細胞の増殖、進行を阻止するには、体内既存の免疫担当細胞としてのリンパ球、macrophage を活性化動員して、癌細胞の殺細胞作用の直接的効果を期待することは極めてむずかしい。これらの細胞は体内に潜在する腫瘍遺伝子保有の細胞の発癌の抑制等には重要で

あっても、増殖を開始し、ついには末期癌へ進行する長期間にわたる癌の猛威に対しては及ぶべくもない。しかし、反面、癌増殖に伴って出現する癌の間質細胞に由来するコラーゲン産生や、癌細胞自ら産生するコラーゲン増殖の促進により、癌細胞の増殖は少なからず抑制されることを明らかにしてきた。

この collagen の増殖は古くから癌の間質反応として知られている。この間質の反応は最初発癌した癌を標的として取り巻き、あるいは新生される angiogenesis が重要である。ヌードマウスでの移植癌でも癌間質形成は癌細胞移植時にすでに angiogenesis という現象を基盤として癌細胞と間質細胞との相互構築が成立することが明らかとなり、一過性に出現するリンパ球、macrophage は癌の特異的抗原刺激に対

して出現する場合よりも、むしろ長期にわたる担癌生体では、癌細胞を取り巻く collagen 増殖を促進する介助として重要であると考えられる。したがって、担癌個体が、より強い免疫基盤の上にたつときは、間質よりの collagen 増殖がさらに促進される。

間質細胞の代表的な細胞ともいふべき、線維芽細胞、線維細胞、内皮細胞はもとより、癌浸潤により破壊された基質や筋線維、軟骨、神経線維等からも、癌浸潤により傷害されれば修復機転として、強いコラーゲン産生が開始される。このことは結核結節の増殖型における治療過程で、結節を取り巻く柵状のリンパ球集積が少なからず乾酪巣の癥痕化への collagen 増殖を促進している現象と極めて類似しているものと考えられる (後述)。

T-細胞を欠除するヌードマウスでの実験で、T-細胞が欠除していても、癌間質からの collagen 増殖のみでも SSM 注射によって少なからず癌の増殖が抑制され、中には癥痕化の促進を来すことを報告してきた。さらに重要なことは、正常マウスの無処理脾細胞や免疫処理をした脾細胞を SSM 注射に添加すれば癌間質からの collagen 増殖が著しく促進されることである。これらの実験結果は、collagen 増殖促進には T-細胞も重要であるが、むしろ正常 N-K 細胞、macrophage 等の関与の有無が collagen 増殖には極めて重要であることを示唆している。しかし、前報の *in vitro* での実験で明らかのように、collagen 増殖の誘発には、癌細胞—線維芽細胞の混合培養のみでも極めて旺盛な collagen 産生が見られることは、これら N-K 細胞、macrophage の仲介細胞を必ずしも必要とせず、間質細胞—癌細胞の接触のみでも起こり得ることを示唆した。問題は癌増殖進行に対抗し、これを克服し得るコラーゲン増殖の促進にある。

今回は、癌細胞と宿主の collagen の反応と増殖に関して、さらに詳しく検討するために、nude mouse の同一個体に前報のヒト由来の肺癌と胃癌のような発生母細胞を異にする癌細胞

を移植して double xenografts を作製し、同一個体、すなわち、同一免疫基盤の上にたつ、これら癌細胞の増殖と collagen 増殖について、既報の結果とも併せて比較検討した。さらに、今回は、第一報に報告したように肺癌 (腺癌) の場合、従来の SSM-A 多糖体成分 ($2 \mu\text{g/ml}$) 効果は癌増殖抑制は一部の動物に見られたが一般に低かったので本実験では SSM 高濃度溶液 $200 \mu\text{g/ml}$ 多糖体 (SSM-A の 100 倍液) を使用した。この使用によって、癌間質反応と collagen 増殖はさらに著しく促進し、癌細胞封じ込めの抗癌作用に関しても注目すべき所見を得た。

また、重要なことは、癌増殖と SSM 注射開始の時期である。前述の実験で腫瘍の生着後 SSM 注射は早ければ早いほど効果的であるので、今回は癌移植と同時に SSM 注射を行い、以後生着し、癌の増大を示した実験群の検討を行った。この注射時期に関しても SSM の抗癌作用に関しては重要な条件の一つであるので報告し、諸賢の御批判をいただきたい。

材 料 と 方 法

臨床治験

前報^{1)~3)}で報告した治験第 II 症例乳癌：初診時43歳、女性。左側乳癌浸潤で潰瘍を形成し骨盤転移を来した症例は今日 (昭和60年3月30日現在) 生存し、腰椎への癌転移のため岡山労災病院で加療中である。前年度までの経過を Table 1 に示したが、昭和59年、膣部より小塊が脱落し、癌転移と断定し、生検した結果病理組織学的に興味深い所見を得た (Figs. 1, 2) SSM 注射による長期生存の乳癌患者のその後の経過報告としたい。

実 験 研 究

SSM H-3 と H-5

従来、臨床的に使用されているのは SSM-A および SSM-B で、ヒト結核菌 (青山株) の菌体から抽出した多糖体成分として、前者が $2 \mu\text{g/ml}$ 、後者が $0.2 \mu\text{g/ml}$ 含有しているが、今

Table 1.

1 症 例： 現在47歳，発病43歳 主婦
乳癌(腺癌)
発見時 Biopsy： 左側乳癌(腺癌)
ただし発見時，癌性潰瘍形成し挙手不可能， 皮膚転移， 左側腋窩リンパ節転移
乳癌摘出不可能 Bilateral oophorectomy
両側卵巣転移及び骨盤腔転移を認む (昭和55年7月14日)
SSM 単独投与開始
4ヵ月後，乳癌の萎縮， 大きさ縮小，Biopsy
挙手可能，癌性潰瘍治癒に向かう
癌性潰瘍治癒，乳癌部硬結残存
職場復帰
3年後，現在健康(昭和56，57，58年)
昭和59年1月10日
子宮腔内に転移巣の小塊，Biopsy
昭和60年4月10日腰椎転移，加療中

回の実験では200 µg/ml 多糖体含有の SSM H-3 および H-5 を用いた。ゼリヤ新薬工業研究所より提供を受けた。

ヌードマウス： nude mouse (Balb/c nu-nu)

生後約2ヵ月の雌雄マウスを使用し，飼育は日本クレア株式会社，ATCL-4 Clean Rack (4 m³/min×0.3 µ，99.97% D. O. P. AC 100V 50/60 Hz) を使用し容器，飼料等は高圧滅菌を行い可求的無菌状態に努めた。

SSM はすべて0.5 ml を皮下の腫瘍近辺に隔日注射を行った。

培養細胞

教室で株化継代しているヒト由来の胃癌細胞 HGC (未分化癌)，¹⁾⁻⁴⁾ ヒト由来肺癌細胞 HLC (腺癌)，^{1)-3), 5)} マウス由来の neuroblastoma cell: NB41A3⁶⁾ (ATCC CCL147) の培養細胞をヌードマウスに移植して xenograft および allograft を作製した。HGC および HLC 癌細胞はいずれも10% FCS 添加 MEM 培養液，37°C 恒温器を使用して閉塞培養瓶で培養した。NB41A3 細胞は15%馬血清，2.5% FCS 添加

F-2 medium 82-5 で5% CO₂ 恒温器で培養した。

ヌードマウスへの培養細胞の移植実験：

HGC および HLC ヒト由来癌細胞の single xenograft：

I. HGC cell の single xenograft：

ヌードマウス (Balb/c nu-nu) の皮下に2×10⁷，ないし3×10⁷ 個の癌細胞を移植し24時間，48時間，72時間，4日，5日，6日，7日に撲殺し angiogenesis を観察した。

SSM 注射実験群：

HGC cell の single xenograft： Balb/c nu-nu. 生後2ヵ月の雌雄を前記のアイソレーター内で filtered air flow の laminar enclosure を使用して飼育した。Table 2 に示すように HGC は生着率低下し，この度は3×10⁶ ないし1.5×10⁷ 個の HGC 癌細胞を皮下に移植した。この場合90%以上の生着と腫瘍増大が見られ xenografts の作製に成功した。前報の実験と同じように50 mice に SSM-A を注射し，H-3 または H-5 高濃度注射群との作用を比較した。30匹のマウスに H-3 または H-5 (200 µg/ml) の高濃度 SSM を皮下注射し，30匹の PBS 注射群または無処理の対照群と比較した。多くの場合は小豆大の tumor の生着を確認後 SSM 注射を行ったが，100%生着を見るので移植と同時に SSM 注射(10匹)を行い，以後隔日に SSM-A，SSM H-3 または H-5 を0.5ml 皮下注射を続行した。この際，移植と同時に注射したヌードマウスで始めより生着しなかったものは観察より除外したが，多くのものは生着とともに癌は増大した。

II. HLC cell の single xenograft：

HGC の場合と同じく angiogenesis の観察のため1×10⁷ 個の HLC を nude mouse の皮下に移植し，24時間，48時間，72時間，4日，5日，6日，7日と撲殺し組織学的検索を行った。

Table 2 に示すように，HLC では3×10⁶ 個以上の移植で100%の生着率を示し，3ヵ月後には直径3cmを超える腫瘍を形成することは既報と同じである。実験群は30匹に SSM-A，

Table 2. Effects on the single xenografts of HGC and HLC in the nude mouse of SSM-A ($2 \mu\text{g/ml}$) and SSM100 ($200 \mu\text{g/ml}$).

	grafted cell number	Disappeared and healed tumor (scar)	Healing tumor with collagenation	Tumor without healing sign	Untransplanted tumor	Total of experimental mouse
HGC						
SSM-A ($2 \mu\text{g/ml}$)	3×10^6	50%	43%	7%	0%	30
	6×10^6	8	65	27	0	30
SSM100 ($200 \mu\text{g/ml}$)	1.5×10^7	88	0	0	12	10
CT	1.5×10^7	0	0	100	0	30
HLC						
SSM-A	3×10^6	0	62	38	0	10
	6×10^6	9	43	48	0	20
SSM100	6×10^6	20	67	13	0	15
CT	6×10^6	0	0	100	0	15

SSM-A was injected subcutaneously after the tumors were grafted and grew.

100 times SSM was injected subcutaneously at the time of transplantation of cancer cells simultaneously.

CT: Control mouse without SSM treatment.

対照群では P. B. S. または無処理群 15 匹, H-3 または H-5 高濃度 SSM は 15 匹に同一条件下で隔日 0.5 cc 皮下注射した. 注射は移植と同時に, または腫瘍形成後, 皮下注射した. この場合の腫瘍の観察はすべて生着し, 増殖を開始した xenograft の観察を行った.

ヌードマウスにおける Double xenografts:

I. HGC cells と HLC cells 移植による double xenografts: Figs. 8, 9, 10

HGC ($1.2 \sim 1.5 \times 10^7$) と HLC (6×10^6) を同一ヌードマウスに移植した. 高濃度 SSM H-3 または H-5 を移植と同時に皮下注射を開始した. この場合も生着と腫瘍の増大は全例に見られ, 以後, SSM は隔日に 0.5 ml 皮下注射した. 実験マウス 4 匹, 対照マウス 6 匹について検索した.

II. HGC と NB41A3 との double xenografts:

同一個体においてそれぞれ発生母細胞の異なる癌細胞を移植し, 宿主の癌に対する生体反応として間質反応を中心に観察した. HGC ($1.2 \sim 1.5 \times 10^7$ cells) と NB41A3 (6×10^6 cells) で 100% の生着と腫瘍の増大を同一個体で観察できたので高濃度 SSM H-3 または H-5 注射群と無処理の対照群とを比較した.

Figure 12 に示すように SSM H-3 は 5 匹, 無処理の対照群は 5 匹について検索した.

III. HLC cells と NB41A3 cells 移植による double xenografts:

HLC cells (6×10^6) と NB41A3 (6×10^6 cells) を同一個体の皮下の異所部に移植した. HGC の移植と同じように SSM-A または SSM H-3, H-5 の皮下注射は腫瘍移植と同時にを行い, 腫瘍より離れた局所に皮下注射した. 以後 SSM H-3, H-5 は 0.5 ml を隔日に皮下注射を行った.

病理組織学的観察:

すべての腫瘍組織は 10% ホルマリン固定を行い, パラフィン切片による H-E 染色, Masson 染色, Mallory 染色, Pap 染色, Van Gieson 染色, その他凍結切片, エタノール固定による Pap 染色, PAS 染色を行って検鏡した.

電顕的観察

常式どおり HGC, HLC の培養細胞を集め, 2.5% グルタルアルデヒドで前固定を行い, 次いで 1% オスミウム酸固定をして, 透過型電顕 (日立 H-500) で撮影した.

Fibronectin 間接蛍光抗体法

培養中の HGC, HLC 癌細胞と移植した HGC 細胞, HLC 細胞の生着時の fibronectin の有無を検討した. ヌードマウスの腫瘍は凍結切片

を作製し, cold ethanol で3分間固定後, 2回 PBS で洗浄した. ヒトの Fibronectin 抗体 (Behringwerke AG, Marburg, West Germany) を 37°C , 1時間処理後 PBS で3回洗浄した. 次いで acetone powder でよく吸収をした anti-rabbit γ -globulin (Fluorescein conjugated, Goat)(Behringwerke AG, Marburg), 1 hour, 37°C 処理を行い, 次いで PBS で3回洗浄後 glycerin (glycerin 1: PBS 1) で封入し検鏡した.

実験結果

SSM 注射乳癌治験第 II 症例^{1), 2)} のその後の経過:

Table 1 のように昭和55年7月7日乳癌のため入院, 同年7月14日両側卵巣摘出, 癌転移と乳癌潰瘍のため SSM-A, B 単独投与を開始

した. 以後, 昭和56年, 57年, 58年と3年間仕事に復職. 昭和59年1月10日, 子宮腔部より転移と思われる腫瘍小塊を発見し生検を行った. そのとき, 以前からの腰椎転移と骨破壊像もあったが, 仕事に従事し SSM-A, B 投与を続け, 昭和60年3月20日現在においては岡山労災病院で加療中である.

昭和59年1月10日子宮腔部より脱落した転移巣(骨盤転移を発見した約42ヵ月以上)の組織像は明らかに癌転移巣であるが, Figure 1 のように転移巣の約1/2は癌細胞が collagenation のため瘢痕化, 消失し, 一部では浸潤しているが癌細胞を取りまく間質細胞, 特に間質由来の線維芽細胞からの collagen 増殖により著明な癌増殖の抑制が見られた(一部後報). 中には癌細胞自身膠原化を来した(Figs. 1, 2).

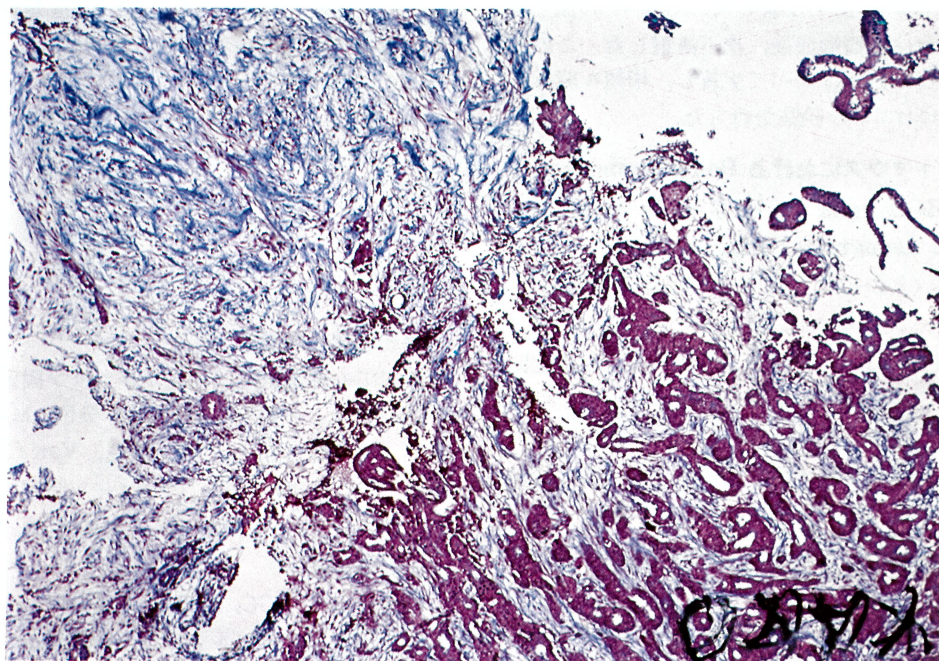


Fig. 1. Clinical Case II. Metastatic breast cancer (51 years old): This case was reported in Kawasaki Igakkai Shi, Vol. 10, No. 3, pp. 286—304, 1984. A small specimen of a metastatic cervical tumor was found 4 years after treatment with SSM-A and B and discovery of metastasis of the breast cancer to the pelvic cavity. The tumor was replaced by collagenation in the cancerous lesion (upper part) and cancer cells in the other lesion combined with remarkable collagen proliferation derived from the stromal cells (lower part). (Masson stain, 40 \times)

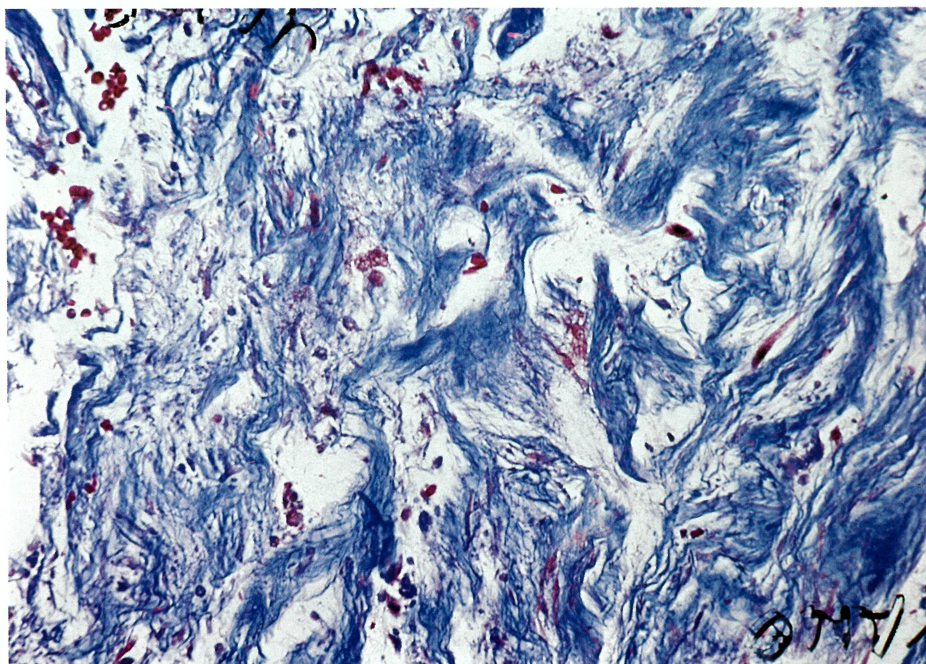


Fig. 2. Clinical Case II. Metastatic breast cancer. A part of Fig. 1. Almost half of the tumor cells were collagenized, while ghost cells and other tumor cells disappeared due to the remarkable proliferation of stromal collagen. Lymphocytes and macrophages were not seen. (Masson stain, 200 \times)

ヒト由来 HGC 細胞と HLC 細胞の電顕所見

光学レベルの所見も培養樹立時とほとんど変わらず粘液産生も見られ明らかな上皮細胞由来の癌細胞であるが、6年間以上継代しているので改めて電顕的にも再検討したが、**Figures 3, 4** に示すように両細胞とも細胞性格は初代時と変わっていなかった。^{4), 5)}

HGC-胃癌細胞

未分化細胞のため rough-surface endoplasmic reticulum の発達は比較的乏しい。Original tumor と同じように mucin production や tubular formation は見られない undifferentiated carcinoma で、いずれも樹立当時 (1976年) と変わらない細胞性格を示している。樹立時は undifferentiated mesenchymal cells を完全に除外し得なかったが、nude mice での heterotransplantation で未分化癌であることを確認することができた (**Fig. 3**)。

HLC-肺癌細胞

1976年樹立当時観察した所見と変わっていない。細胞質内には豊富な rough-surfaced endoplasmic reticula や free ribosome が見られ、多数の分泌顆粒が見られた。Antenna 様の fibrillar projections を有する多数の microvilli を含んでいる空胞を認めた。少数の terminal bar も観察でき上皮細胞性格を保持している (**Fig. 4**)。

ヒト由来胃癌細胞 HGC (未分化癌) の生着と癌間質形成—angiogenesis—

100% 生着する HGC 細胞 3×10^7 個をヌードマウスの皮下に移植し、経時的に宿主の局所反応を調べたところ、癌細胞の生着に重要なことは局所の angiogenesis⁷⁾⁻¹⁰⁾ であった。24~72 時間で移植癌細胞を取り巻く小血管の伸展が見られ、流血中の好中球、リンパ球がわずかに散見されるが一過性であり72時間以上経過すると消失した。腫瘍はリンパ球の少数の出現とは無

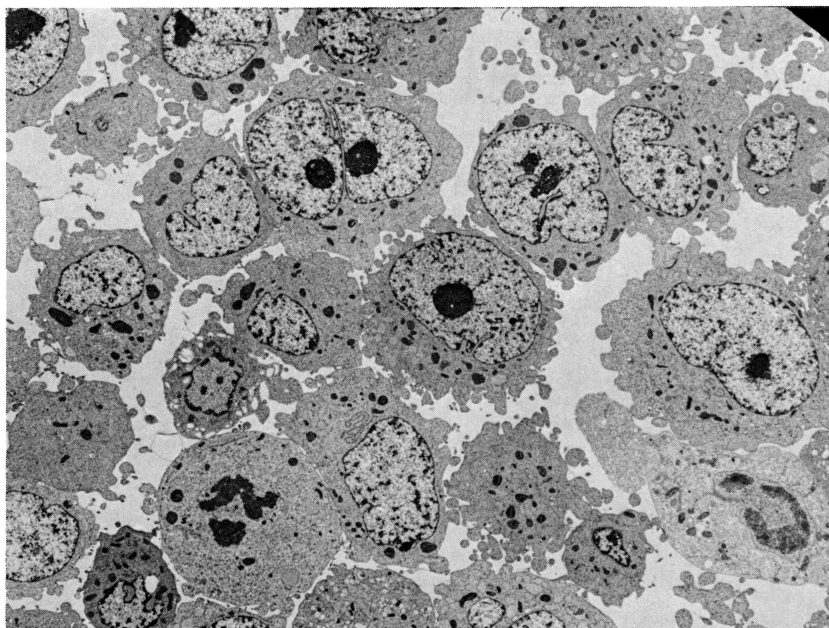


Fig. 3. HGC cell electron microscopic findings. The characteristics of the cells have not varied nor shown undifferentiated epithelial cells since the cell line was established. (1500 \times)

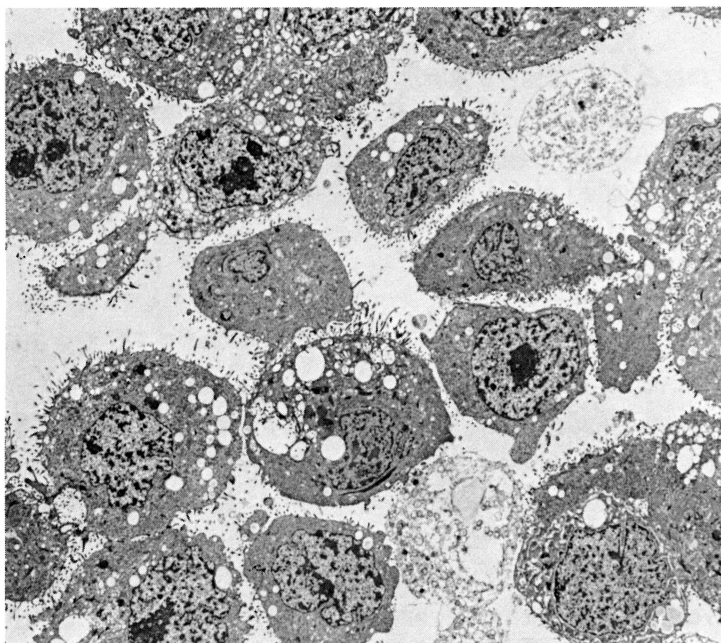


Fig. 4. HLC cell electron microscopic findings. The characteristics of the cells have not changed since the cell line was established. The cells show epithelial characteristics. (1200 \times)

関係に増大を始めるが、新生血管が癌巣内および癌巣周辺を取り巻く angiogenesis が見られた(4日)。この栄養血管により癌巣の癌細胞は生着継代され mitosis も見られ漸次増殖した。5日で癌巣周囲は血管由来の線維芽細胞が増殖し (Fig. 5), 6日以後、病巣を取り巻き癌間質が構築された。この時期ではリンパ球, macrophage はほとんど見られず、細胞間の相互関係は、癌細胞と線維芽細胞であり生着後の癌増殖に関与する間質細胞の役割を示唆している (Fig. 6)。以後生着した癌細胞は無処理の場合には SSM 注射に見られるような著しい癌間質の collagen 産生も少なく、癌細胞増殖の抑制も見られず腫瘍の増大を続けた。

ヌードマウスの HGC 移植による single xenograft と高濃度 SSM

培養細胞の継代と状況により移植率はやや異なるが 1×10^7 個以上では 100% の生着率を見る (4年前では 6×10^6 で 100% 生着した)。無処理の対照マウスでは移植後 4~5 カ月で超鶏卵大に達した (既報)。腫瘍の表面に浅い潰瘍を作ることもあるが、無処理マウスでは SSM 注射群に比し、潰瘍性壊死巣も表在性であるか、形成しないものが多い。

SSM-A 注射の場合でも、HGC の癌巣では HLC に比べて collagen 増殖は著しく、かつ、びまん性で個々の癌細胞を取り巻き、癌増殖の抑制とともに腫瘍は瘢痕化を来す傾向が強かった (8%)。移植と同時に 100 倍液注射を開始したもので、全例に collagen 増殖はさらに顕著で (88%)、移植と同時に注射すると腫瘍の消失、または、生着率が極めて低下した (Table 2)。このとき、SSM-A 注射群では、リンパ球、組織球, mast-cell, macrophage の出現はヌードマウスではほとんど見られなかったが、100 倍液注射群では mast-cell の増殖がみられ血管中心性の collagenation がさらに増強した。

ヒト由来肺癌細胞 HLC (腺癌) の生着と癌間質の形成：

生着に十分な HLC 細胞 1×10^7 個を皮下に移し、経時的に癌生着と癌間質形成の過程を見たところ、HGC と同じように angiogenesis を基

礎として癌巣を囲繞して新生血管の形成が見られた。新生血管はやがて癌巣内にも入り癌細胞の生存と増殖に役立ち、1 週間には血管由来の間質細胞層を形成し癌間質、すなわち癌細胞—線維細胞の細胞間交流を示唆する所見が得られた (Fig. 7)。

ヌードマウスの HLC 移植による single xenograft：

HLC 6×10^6 以上で 100% の生着率を示した。腫瘍は 5 カ月放置で鶏卵大に達し、自然消失または自然瘢痕化のマウスは一匹も見られなかったことは既報と同じであった。SSM-A の本質的な抗癌作用は癌間質のコラーゲン増殖の促進であり、殺細胞は著明でないが HLC 移植実験では癌は増大しながら collagenation により瘢痕化を来した (9%)。数例において、この瘢痕塊は脱落するものもあることは前報で報告した。このことは末期乳癌患者の SSM-A, B 注射でも遭遇した重要な所見である。²⁾ 対照群でも、腫瘍の表面の潰瘍性壊死は自然状態でもときどき見られるが、HLC の場合、まれであるか、極めて表層性であった (Figs. 8, 9)。しかしながら、HLC の場合、前報²⁾ で報告したように、SSM-A 注射による HLC-腫瘍の collagenation および瘢痕消失は HGC に比べて効果的ではなかった。これに反して、SSMH-3 または H-5 の 100 倍液濃厚液注射で HLC の癌巣を小葉状に取り巻く collagen の増殖は極めて顕著で、間質反応の促進も見られ、リンパ球様細胞をはじめ macrophage, 特に mast-cell の増殖は著しく促進され、xenograft の縮小と瘢痕壊死化が SSM-A 注射群と比べて極めて著明であったことは注目すべき所見であった (Table 2)。SSM-A 注射の場合では、4~6 カ月を要した腫瘍の瘢痕化も、高濃度の注射の場合、著しく促進し短縮された (Fig. 10)。

また、高濃度注射の場合、腺癌の HLC は扁平上皮細胞化生の傾向が強く、2 例では癌真珠の形成が見られた (Fig. 11)。この細胞分化に関連する現象は SSM-A 実験群では 300 例中 1 例も見られなかった。

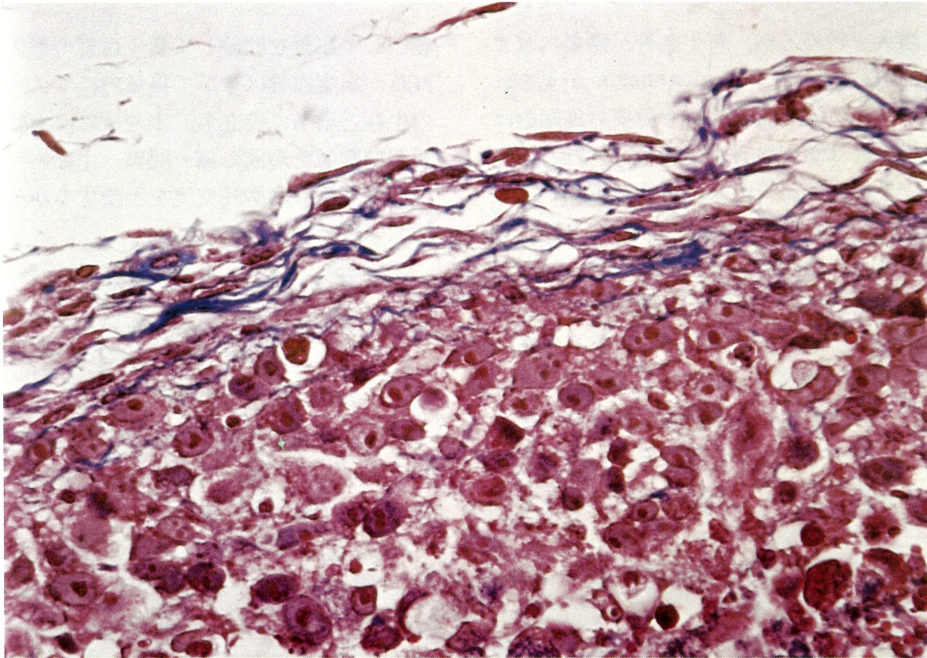


Fig. 5. The stromal cell components of the cancer originated from angiogenesis 5 days after transplantation of HGC cells (3×10^7) in a nude mouse. Lymphocytes and macrophages were not found at this stage. (Mallory stain, $200\times$)

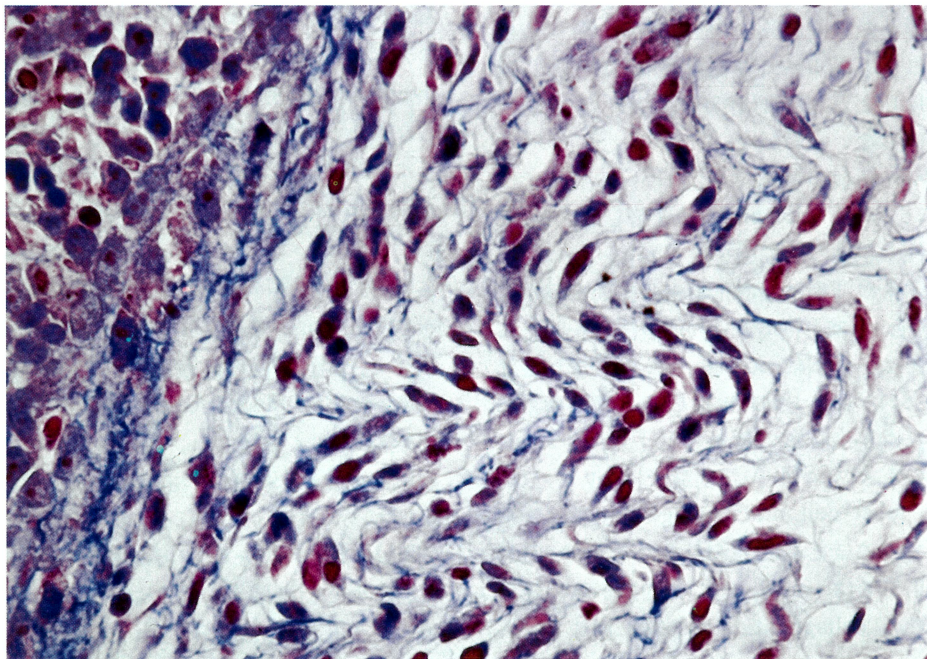


Fig. 6. The proliferation of fibroblastic cells derived from blood vessel elements of angiogenesis surrounding the HGC tumor. Collagen fibers produced by fibroblastic cells (blue), and tumor cells embedded in a nude mouse 5 days after transplantation. Lymphocytes and macrophages were not found, but it has been revealed that fibroblasts also have potential of phagocytic activity. (Mallory stain, $200\times$)

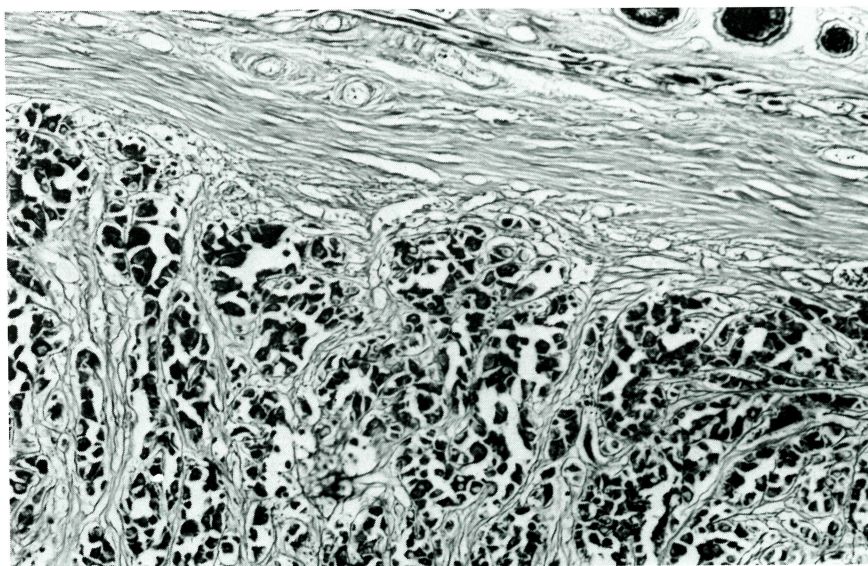
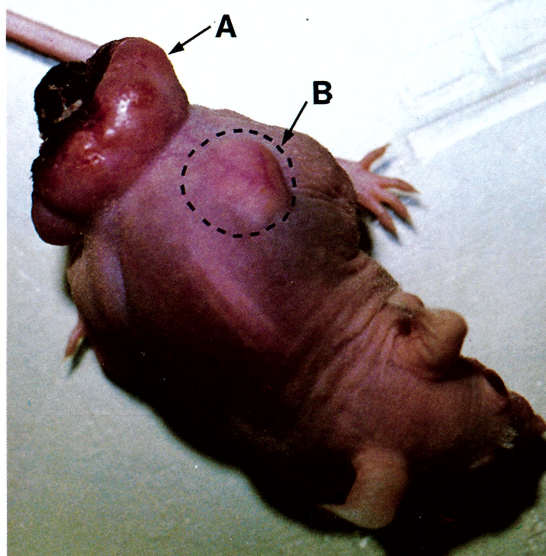


Fig. 7. Proliferation of stromal collagen due to angiogenesis in HLC xenografts 6×10^6 in a nude mouse. 40 days. SSM H-3 or H-5 treatment. Lymphocytes and macrophages were not observed in the stroma.
(Pap stain, $200\times$)



Figs. 8, 9. Growing xenografts of HLC (6×10^6) transplantation. Control nude mice. Ulceration of the tumor was not so remarkable (A) or localized on the superficial tumor in the control mice. A small tumor (B) in the HGC xenograft. 58 days. 110 days.



Fig. 10. Double xenografts of HLC (6×10^6) and HGC (1×10^7) in a nude mouse (♀). The xenograft shows remarkable collagenation and cicatrization of the HLC tumor (A). The HGC xenograft (B) shows inhibition of growth of the tumor 58 days after transplantation and treatment with SSM H-3 or H-5.

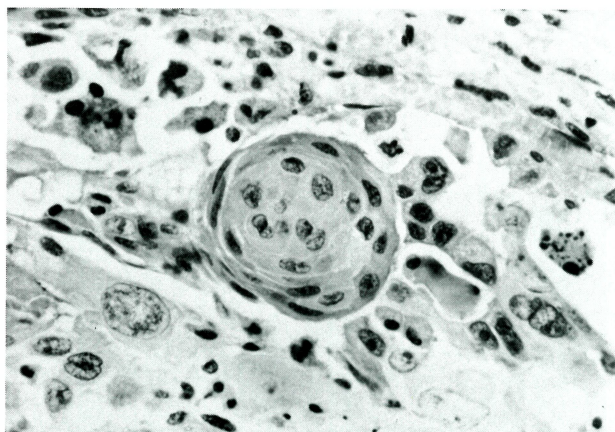


Fig. 11. Cancer pearl formation (metaplasia) of an adenocarcinoma of an HLC xenograft (6×10^6) 60 days after the treatment with a high concentrated solution (SSM H-3 or H-5). (H. E. stain, $200 \times$)

ヌードマウスにおける HGC (1×10^7) と HLC (6×10^6) の double xenografts:

single xenograft では HGC 移植の場合、この未分化癌に対する間質コラーゲン増殖はびまん性であり、HLC に対するコラーゲン増殖は小葉性であったが、さらに、これらの生体の

collagen 反応様式が免疫基盤の相違によるのかどうかを検討した。そこで免疫条件をはじめ生体反応もすべて同じである同一個体のヌードマウスでの double xenografts を作って観察した (Fig. 12).

この同一個体でも、HGC に対しても collagen の増殖様式はびまん性、HLC では小葉性の collagen 増殖であり、個体を異にした single xenograft での様式と同じであった。このことは collagen 増殖様式は免疫条件よりも、癌細胞によってそれぞれ異なることを前報の実験に続いて明らかにすることができた (Fig. 13). この場

合、本来の SSM-A よりも高濃度注射群では collagenation はさらに増強し、癌細胞は完全に封じ込まれた (Figs. 14-19). この collagen formation は癌細胞を移植すると angiogenesis により最初は血管壁より始まり、HLC, HGC の細胞に対してそれぞれ異にした好銀線維の形成

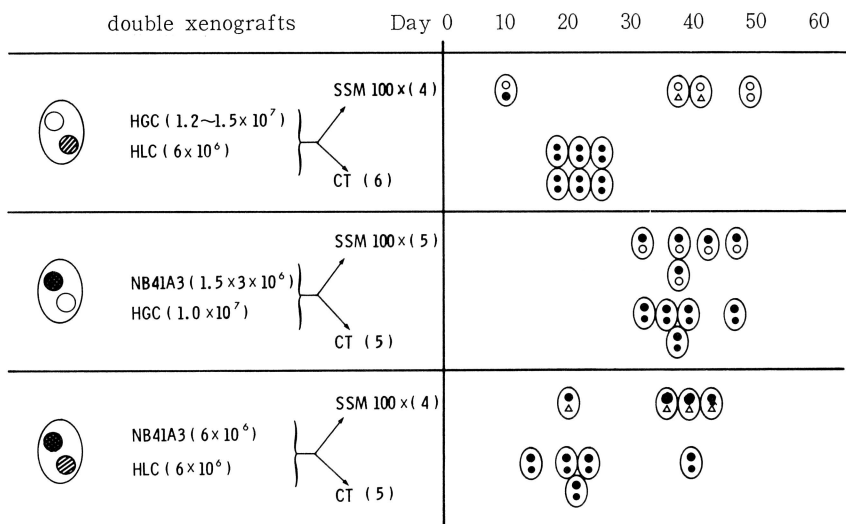


Fig. 12. Effects on the double xenografts of HGC, HLC and NB41A3 in the nude mouse of SSM $100 \times$ ($200 \mu\text{g/ml}$).

○ Healed or disappeared tumor (scar) △ healing tumor with collagenation
 ● Growing tumor without healing sign

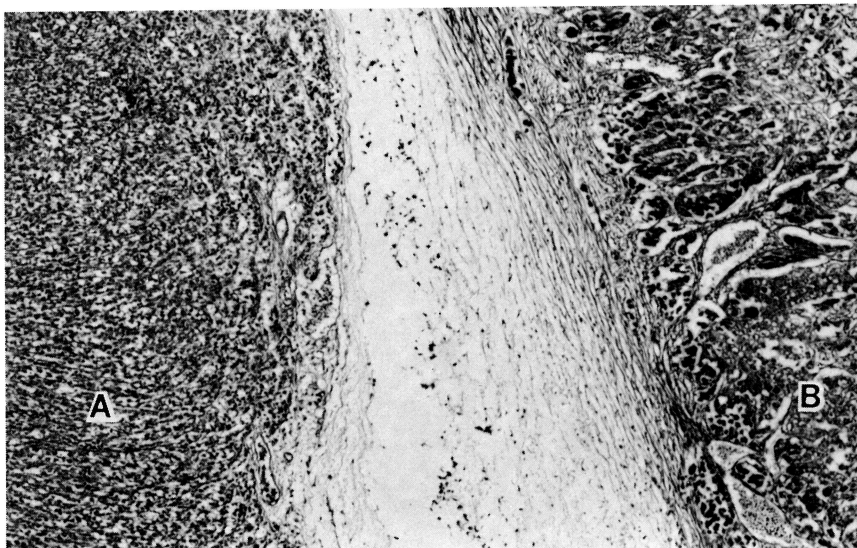


Fig. 13. Double xenografts of HGC (1×10^7) and HLC (6×10^6) in a nude mouse (♂). The HGC tumor shows undifferentiated cancer and diffuse proliferation of the stromal collagen fibers (A). The HLC tumor shows adenocarcinoma and lobar proliferation of the stromal collagen fibers (B). 67 days. (H. E. stain, $40 \times$)

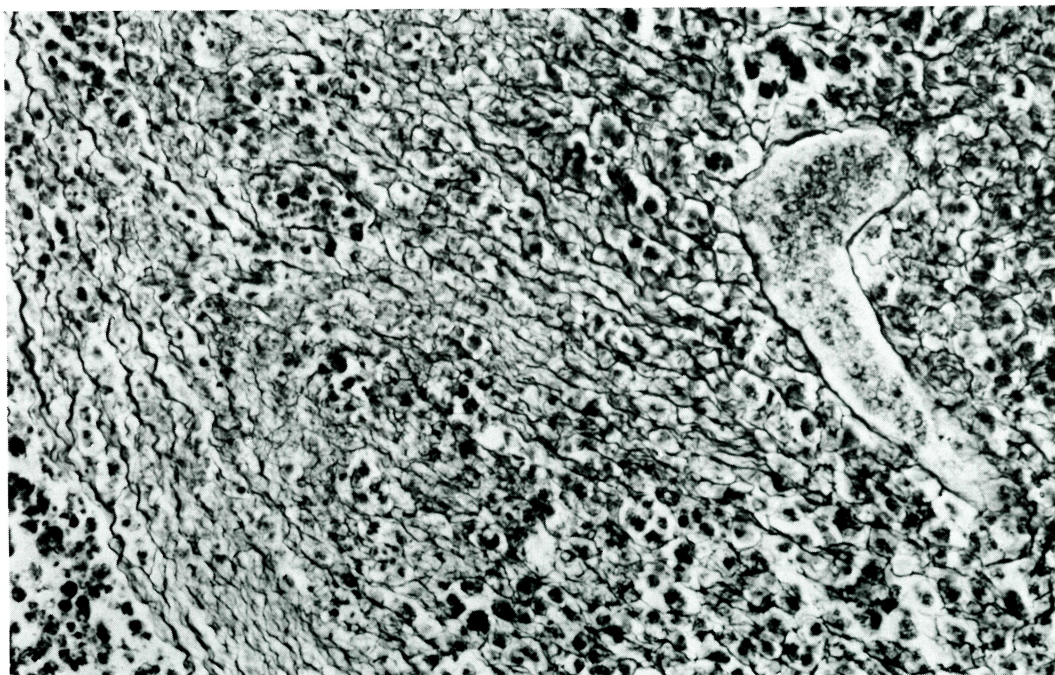


Fig. 14. HGC xenograft of a double xenograft of HGC (2.5×10^7) and HLC (6×10^6) in nude mouse (♀). Remarkable proliferation of collagen fibers from the vascular wall against infiltrating cancer cells was observed 67 days after transplantation and treatment with SSMH-3 of H-5. (Pap stain, $200 \times$)

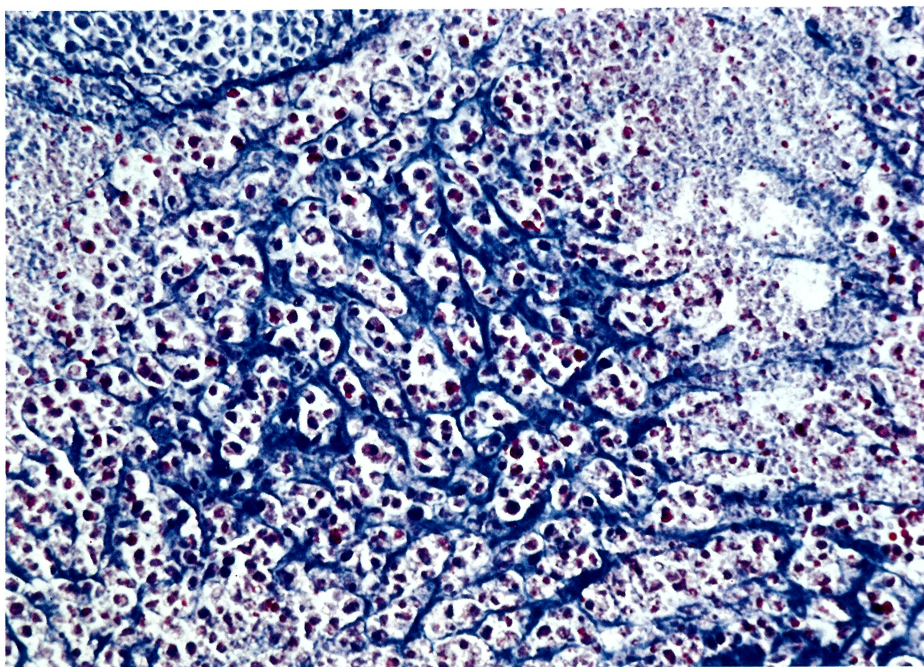


Fig. 15. Production and proliferation of collagen fibers in a necrotic lesion invaded by infiltrating cancer cells in a double xenograft of HGC (2.5×10^7) and HLC (6×10^6) transplantation. SSMH-3 or H-5 treatment. 48 days. (Mallory stain, $200 \times$)

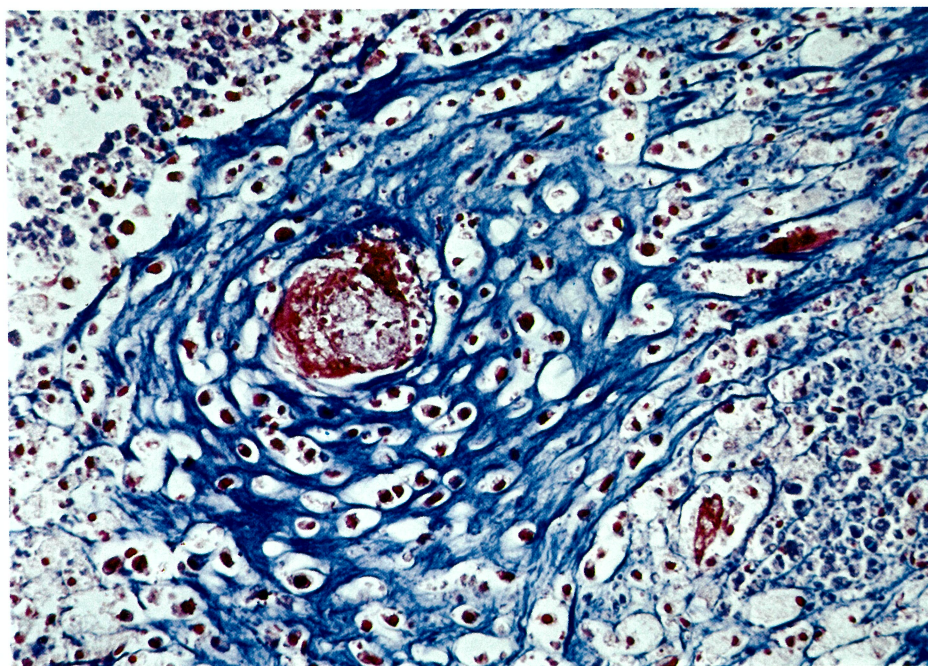


Fig. 16. Infiltrating cancer cells in the necrotic lesion were confined by matured collagen fibers proliferating around blood vessels. HGC xenograft of a double xenograft of HGC (2.5×10^7) and HLC (6×10^6) transplantation to nude mice. 116 days. (Mallory stain, $200\times$)

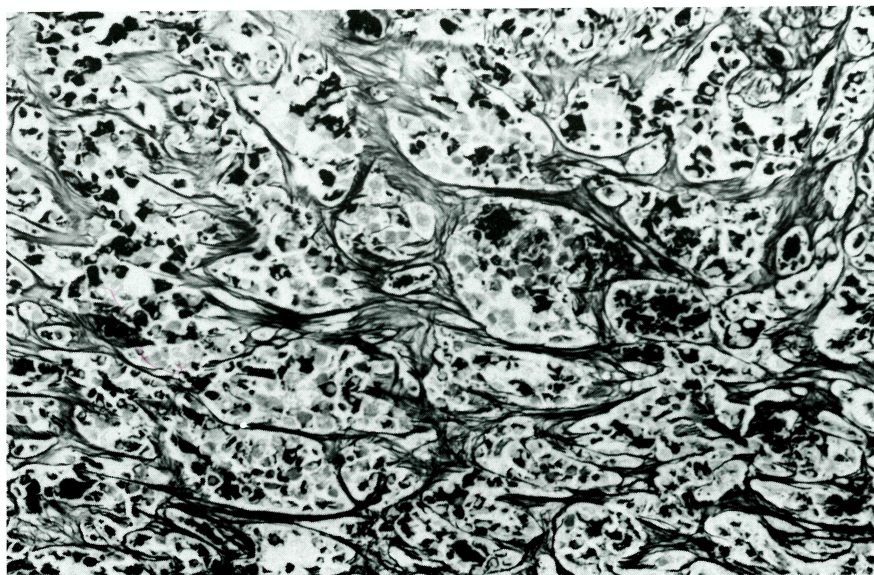


Fig. 17. Proliferation of collagen fibers of HLC (6×10^6) xenografts was promoted more by injection of SSMH-3 or H-5 than of SSM-A. 40 days. (Pap stain, $100\times$)

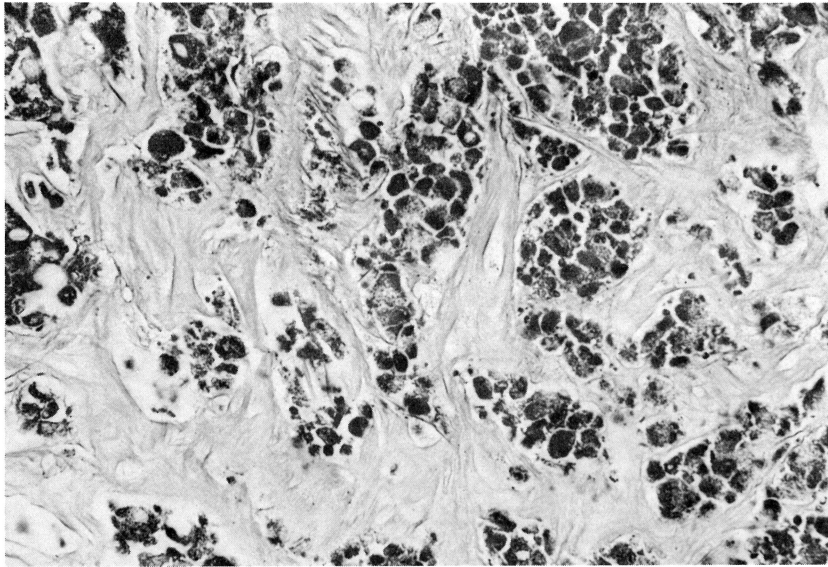


Fig. 18.

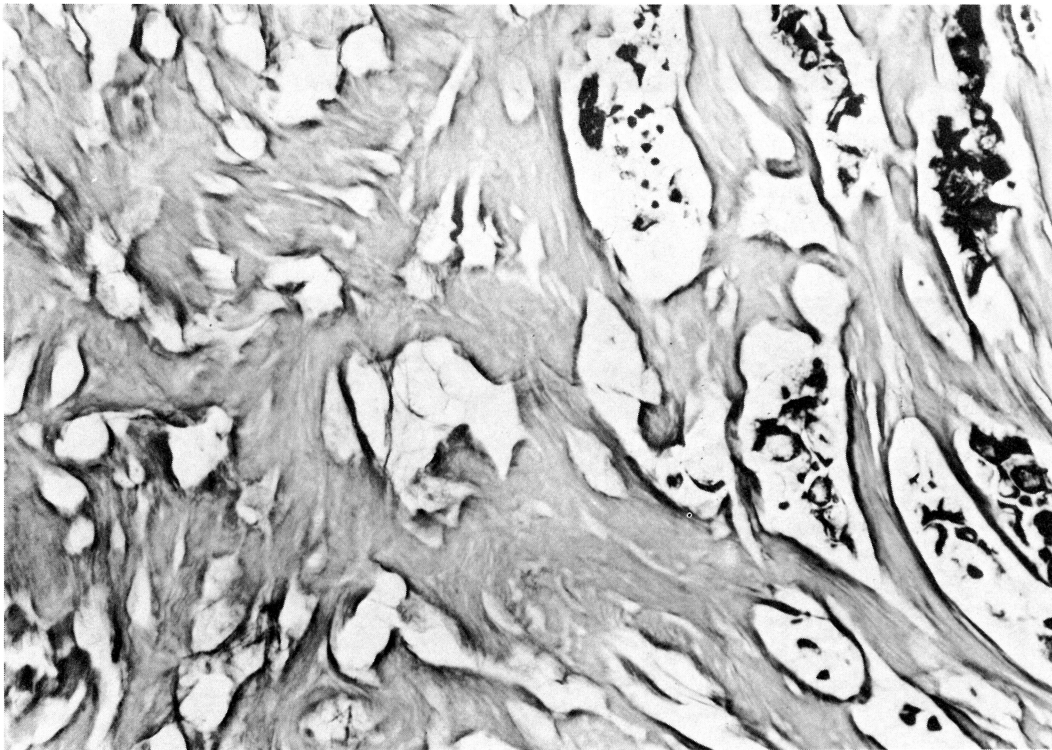


Fig. 19.

Figs. 18, 19. A single HLC-xenograft (6×10^6) of a nude mouse (♀). The lobular proliferating HLC cancer cells became degraded and disappeared due to confinement by remarkable proliferation of collagen fibers. 33 days (Fig. 18 ♀) and 45 days (Fig. 19 ♀) after treatment with SSM H-3 and H-5 at the same time as cell transplantation. (Pap stain, $200\times$)

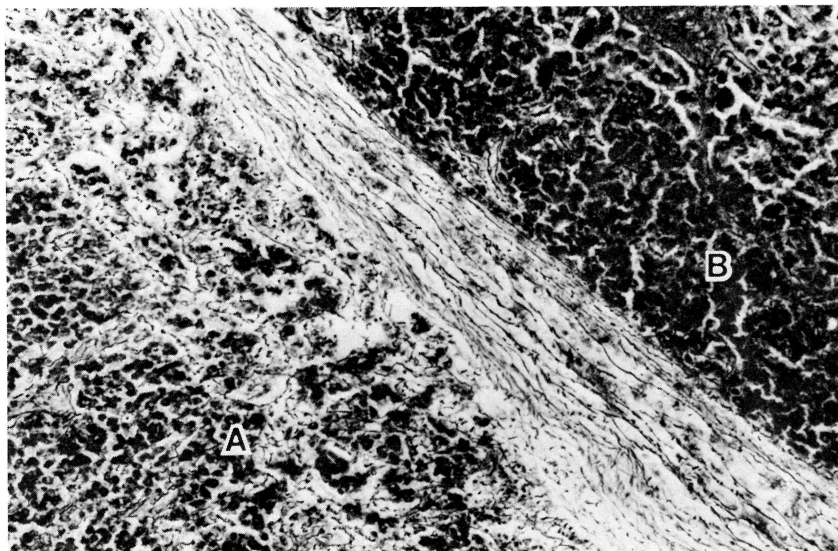


Fig. 20. Double xenografts of HGC (6×10^6) (A) and NB41A3 (3×10^6) (B) in a nude mouse (♀). The response of the stromal collagen fibers was observed in the HGC xenograft, but was not observed in the NB41A3 allograft of the same host. 37 days after treatment with SSM H-3 or H-5. (Pap stain, $40\times$)

と増殖が見られる (Figs. 5, 6, 7). 無処理マウスでも癌間質は必ず形成されるが、以後癌の経過中、癌増殖に伴う collagen の増殖は SSM 注射群に比し顕著ではない。特に Mallory 染色によって濃染する成熟した collagen の形成では両者に顕著な相違が見られた (Figs. 16, 19). なお SSM-A 注射では HGC に比しコラーゲン増殖の弱かった HLC xenografts^{1), 2)}でも、著しいコラーゲン増殖が高濃度 SSM 注射によって見られた (Figs. 17, 18, 19, Table 2).

ヌードマウスにおける HGC (6×10^6) と NB41A3 (6×10^6) の double xenografts: (Fig. 20)

未分化癌の HGC に対しては血管のコラーゲンの反応は著明で、格子状の reticulin の増殖が見られ (Fig. 21), 特に、移植と同時注射の 100 倍液では、癌の縮小と膠原化が著明で、時間の経過とともに collagen は Mallory 染色で強い染色の見られる collagen へと成熟した (Fig. 22). これに反し、パートナーの NB41

A3 腫瘍に対しては同一個体でも血管反応、collagen の増殖は全く見られなかった (Fig. 23). このように、移植した腫瘍細胞によって間質反応の増強は同一個体で異なるが、SSM の効果も HGC に対しては顕著であるのに、NB41A3 細胞に対しては長期生存のものをのぞいて全く見られず腫瘍は増大した。

ヌードマウスにおける HLC (6×10^6) と NB41A3 (6×10^6) の double xenografts:

NB41A3 移植の allograft では腫瘍細胞の移植に対して血管反応は見られず、好銀線維形成もほとんど起こらなかった。この際 SSM 注射は全く無効で、腫瘍は増大し、超鶏卵大に達した。Double tumor でも同じで、パートナーの HLC に対して single xenografts での collagen 増殖パターンと同じく collagen fiber は小葉状に取り巻き、高濃度 SSM 注射で collagen の増殖はさらに著しく促進されたが、NB-41A3 に対しては、ほとんど最初より見られなかった。しかし、この NB41A3 に対して SSM-A

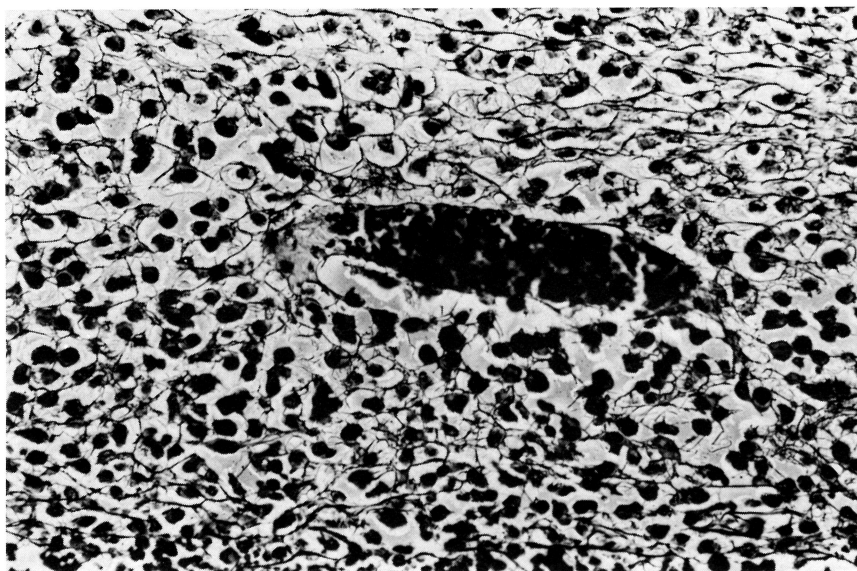


Fig. 21.

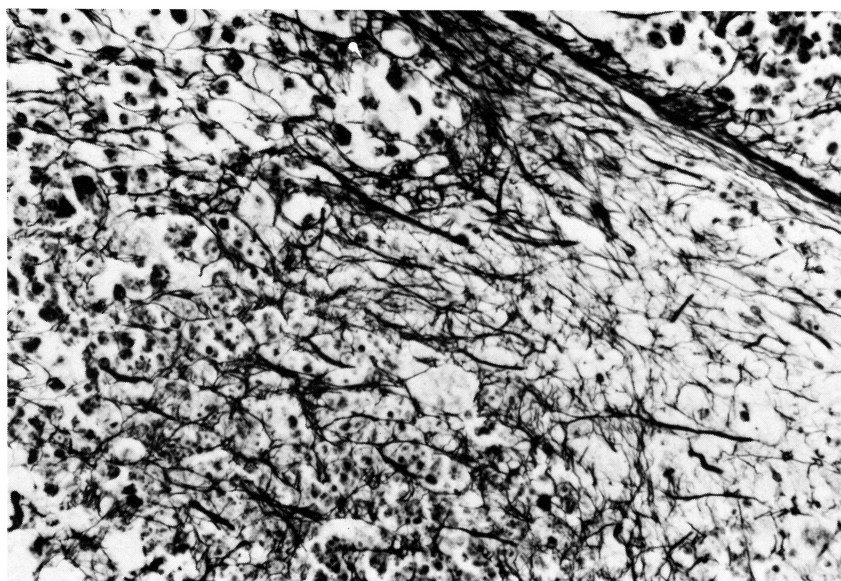


Fig. 22.

Figs. 21, 22. The responses of collagen fibers to cancer cells in the HGC xenograft of a double xenograft of HGC (2.5×10^7) and HLC (6×10^6). Production of reticulin fibers was observed around the individual HGC cancer cells as the response of the collagen of the host.

Fig. 21. HGC xenograft of a double xenograft of HGC (2.5×10^7) and HLC (6×10^6). Control. 110 days. (Pap stain, $200\times$)

Fig. 22. Proliferation of collagen fibers promoted after treatment with SSMH-3 or H-5 in the HGC xenograft of a double xenograft of HGC (2.5×10^7) and HLC (6×10^6). 111 days. SSM was treated at the same time as cell transplantation.

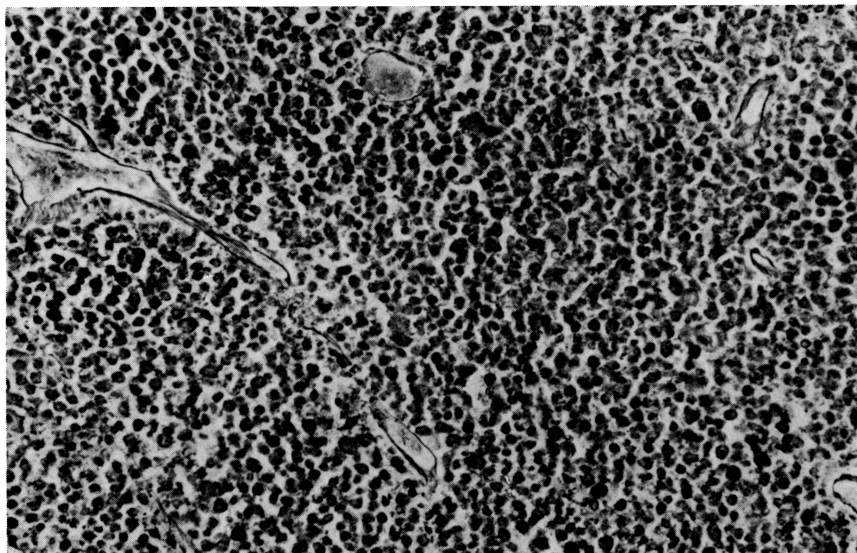


Fig. 23. NB41A3 allograft of a double graft of NB41A3 (6×10^6) and HGC (2.5×10^7). No response of collagen fibers from the stroma and blood vessels was observed and SSM treatment (110 days) was not effective. (Pap stain, 200 \times)

は無効であったが、100倍液注射では生存日数の延長を見たものは、対照群よりは表在性ではあるが、著しい膠原化を促進した。

考 察

ヒト由来胃癌細胞 (HGC)、肺癌細胞 (HLC) 等の癌細胞をヌードマウスの皮下に移植すると、最初周囲の血管が伸展し癌巣を取り巻き、次いで癌巣内に細血管が伸展新生し、いわゆる angiogenesis^{7)~10)} が見られる。1~3日以内では血液中を流れている好中球等がわずかに集積してくるが、やがて消失し、血管網はさらに伸展発達し、約5~6日で血管由来の間質細胞の増殖と癌の生着が見られた。以後、癌は増大を開始するが癌巣周囲にはリンパ球、macrophage の著明な遊出は見られず、最初出現した好中球は消失し、癌細胞と血管由来、または間質由来の細胞と癌細胞との相互関係が構成された (Figs. 5, 6, 7)。その後、長い経過中で macrophage も出現するが、このマクロファージによる癌細胞増殖抑制を示唆するに足る直接的な所見は見られなかった。それに反して、癌細胞

一線維細胞との相互関係は以後の癌進展に重要で、培養実験³⁾で見られたような collagen 産生が誘発されるものと考えられる (Figs. 5, 6)。もし、個体において、特異的にはもちろん、非特異的な細胞免疫の亢進があれば collagen の増殖はさらに促進される事実は前報の脾細胞等の添加実験によって明らかである。^{1), 2)} このように T-細胞を欠除しているヌードマウスへ癌細胞を移植すると angiogenesis が見られ、collagen 産生を促進することにより少なからず癌増殖は抑制を受けることが明らかとなった。さらに重要なことはこの angiogenesis によって集合した fibroblast の機能である。著者ら^{11)~15)} はつとに fibroblast が貪食能を有していること、植木^{16)~18)} もまた fibroblast 細胞表面に C₃ receptor の存在を指摘し、著者は、この fibroblast を免疫担当細胞の「第三の細胞」として強調してきた。したがって、fibroblast は macrophage を代行し得る潜在能力を有し、本来の遊走性 macrophage の免疫的機能を代行し、長期の癌の進行に collagen 産生とともに貪食認識機構からも重要な役割を

有していると考えている。

著者は前報^{1)~6)}において、生体内既存のリンパ球 macrophage による *in vitro* における直接的な癌細胞の増殖の抑制は発癌時のような初期では免疫監視機構としては一時的には有効であっても、発癌以後、無限に増殖を続ける癌細胞の猛威に対して、これらの生体内免疫担当細胞の有する細胞傷害を目的とする免疫学的な生物活性のみに依存しても、癌増殖には及ぶべくもないと思われる。このことは、昭和57年日本癌学会の特別講演で山村¹⁰⁾ のつとに指摘するところでもある。ひるがえって、生体内においても、*in vitro* の実験でも、癌の進行に伴って形成される癌間質細胞を中心に至るところに分布する fibroblast をはじめとするコラーゲン産生の潜在能力を有する細胞に依存することは極めて重要であることを強調してきた。

さて、ヒト由来癌細胞の培養細胞をヌードマウスに移植した場合、ヒト胃癌の未分化癌移植の時と、ヒト肺癌由来の腺癌を移植した場合の生体の示す間質反応と collagen の増殖様式が異なるので、このことが個体の免疫条件に左右されるか否かを検討するため同一個体を利用して、母細胞の異なる二種の癌細胞を移植して double xenografts を作り、癌増殖に対する生体の collagen 増殖の反応様式を比較検討してみた。

その結果、HGC に対する collagen 増殖、HLC に対する collagen 増殖、NB41A3 に対する collagen 増殖は single xenograft と全く同じで、個体の免疫条件よりも collagen 増殖の基本的な反応のパターンは癌細胞に依存して、それぞれ異なることを、^{2), 3)} さらに明らかにすることができた。

この場合、前報の実験報告²⁾ のように HLC xenografts に対する SSM-A (2 μ g/ml) の抗癌効果はマウスが長期生存し、かつ、長期間 SSM 注射をうけたものに対しては著効があったが、全体的に collagen 増殖はあまり強くない、未分化癌の HGC のように個々の癌細胞をとりまくものに比して、癌抑制の効果は低かつ

たので、Table 2 に示すように、今回の実験では 100 倍濃度液を使用した。この場合 collagen 増殖の顕著でない HLC の場合でも collagen 増殖は極めて促進され、癌の瘢痕化をさらに促進し時間的にも著しく短縮させた (Figs. 10, 17, 18, 19) ことは極めて注目すべき所見であった。

この場合でもヌードマウスは何らの副作用も示さなかった。ただ、マウスはいずれも結核感染の既往もないので、人の場合の感受性と異なることは言うまでもないが、SSM の抗癌作用として間質の collagen 増殖を主眼とする場合、癌抑制には高濃度 SSM の方が著効があった。

次いで、重要なことは SSM 注射の開始時期である。前回までの実験では、癌移植後生着増大を確認 (移植後約 2 週くらい) してから注射を始めたが、今回の実験では癌移植と同時に注射を開始した。これは移植する癌の細胞数から 100% 生着することを確認している理由と、万が一、生着しなかったヌードマウスは実験よりすべて除外した。その結果、生着と同時に SSM 注射を開始したものも腫瘍は増大するが、1 カ月以後、長期間の観察からは明らかに对照群と相違が見られた。SSM 注射経過とともに癌は増大しながらやがて表層の肉芽化、潰瘍形成等顕著な肉眼的変化が見られるようになる。SSM-A 実験群で HLC の移植癌では 5 カ月くらい要した腫瘍の「かさぶた」化の現象も Figure 10 のように著しく促進短縮し、約 40 日で腫瘍は「かさぶた」化を来した。また、あるものは腫瘍の増大を停止した。HGC の場合もヒマン性の collagen 増殖も著明に促進され、血管内へ侵入しようとする癌細胞に対して網目状の collagen 増殖が促進され、投網に捕捉された川魚のように個々の癌細胞を封じ込め、ついには瘢痕化を来した (Figs. 14, 15, 16)。

これら癌間質の collagen 増殖により封じ込まれた癌細胞はやがて個々に、または巣状の壊死を来し、転移することなく消失した。

SSM 高濃度使用の場合 collagen 増殖は、特

に著明で SSM-A の実験で有効性の低かった HLC の xenografts の場合でも間質反応も極めて著明で (Figs. 17, 18, 19), 組織球, 特に mast cell の増殖も著しく出現した. また, SSM-A 注射群では全くみられなかった肺癌細胞の扁平上皮細胞への化生現象が少数に見られ, 中では癌真珠の形成が見られた (Fig. 11).

富士はメチルコラントレンの発癌実験で多くのマウスは扁平上皮癌を誘発するのに, SSM 投与群では癌化現象は低下し, 良性の乳頭腫を誘発することを指摘しているが(未発表), これらの事実は極めて重要で, SSM と細胞分化に関しても今後重要な課題と考えている.

いずれの実験でも高濃度 SSM 注射を行い, かつ長期間の使用でもマウスにはなんら副作用も見られずマウスは対照群に比しても生き生きとしていた.

さて, これまでの実験結果から SSM の抗癌作用の一端を知ることができたが, 同一個体でも移植した母細胞の異なる腫瘍の種類により, collagen 増殖の有無によって極めて有効なもの, 全く無効なもののあることを知ることができた. NB41A3 の移植癌に見るように従来臨床的に認可治験薬として使用されている SSM-A は全く無効であった³⁾ (Figs. 20, 23). この事実は血管を中心とする collagen 増殖が皆無であることによることは疑う余地がない. NB41A3 はマウスの神経芽細胞腫で, 悪性腫瘍ではあるが, 病理学的には癌ではない. 今日, 抗癌実験として癌細胞に比して肉腫細胞はたやすく入手できるし, 動物実験で容易に移植可能であることから, 肉腫細胞が抗癌作用の究明に使用される実験が極めて多い. 著者も本実験の癌増殖について, その対照の背景として, 肉腫細胞 (SV 40 の腫瘍) をはじめ特殊腫瘍細胞 (後述) の移植実験をも重ねて比較検討してみたので後報したい.

SSM は今日, 長年月の歳月を費して, 広範な動物実験が行われてきたが, 癌細胞傷害作用を重視するあまり作用機序の点では延命効果のほかには有効性に関する解明が不成功に終わっ

ているように思われる. しかし, 癌患者に関する臨床治験例にも, 著者らも経験しているように, 時に著しい癌増殖の抑制, 延命効果がみられることから, 年々 SSM 使用患者は増加し, 今日では日本医大ワクチン研究施設の統計によれば二十万人を越しているという. 社会的に考えてみても, 一日も早く, その有効性の有無の解明がなされなければならないことは誰しも望むところである.

そこで, この機会に, 動物実験で今日まで報告されている研究報告を検討してみると, やはり人癌治療を目的とした免疫化学療法の実験病理学的研究のために, マウスの線維肉腫の移植実験が「癌」の代表例として多く用いられていることは SSM の実験だけではない. 3-メチルコラントレン誘発の腫瘍のような MC-1 腫瘍系の移植癌²⁰⁾ に対しても, 著者らの間質コラーゲンに着目して検討したい.

ゼリヤ新薬医化学研究グループは昭和56年より昭和59年1月に至るまで1万匹以上のマウスと莫大な研究費を投じて, SSM の抗腫瘍効果に関する一連の基礎実験を行った. 第一の目的は SSM を免疫治療薬と考えて, リンパ球, macrophage 等の免疫を軸とする生体防御機構が腫瘍細胞の排除に働くか否かであった. そのため対象とする腫瘍系の選択が重要であるとしてマウスメチルコラントレン肉腫 Meth-1 (同系) と MC-1 (同系)^{20)~22)} を中心として13系のマウス腫瘍を使用した. 前者は腫瘍特異抗原の存在と免疫による増殖抑制効果が知られており, 後者はX線照射を受けて生体防御に不全状態をきたしているマウスでは増殖が促進され, 他方 BCG 前感作によって生体防御が活性化されているマウスでは増殖が抑制されていることが確認されている理由で, SSM の免疫活性の増強の有無による抗腫瘍効果をしらべたものである.

なお SSM 注射は濃厚液を含めて7~10回の短期間注射の実験を行った. その結果, この実験系では, SSM に有意の抗腫瘍効果, 生体反応増強効果は認め難いと結論している.

著者はこの実験での SSM のネガティブ・データーを極めて信頼すべきものと考えているが、著者の臨床治験の経験と実験結果にもとづいて私見を述べさせてもらいたい。

著者も、最初リンパ球-癌細胞の関連性を重視して、一枚の病理標本から SSM の研究を思ったことはすでに述べたところである^{1),2)}が、臨床治験例をはじめ、T-細胞欠除のヌードマウスでの実験結果から、SSM を特に免疫治療薬として、免疫細胞の活性化促進による有効性を示唆する所見は臨床的に許可されている SSM-A, B に関する限り明らかでなかった。また cancer として使用されている C57 Bl/6 マウス由来の Lewis Lung carcinoma²²⁾であるが、極めて未分化な特殊腫瘍細胞であるので、著者も将来このものの細胞生物学的な性状についても検討する予定である。著者は SC 115 (Shionogi carcinoma) について SSM-A 効果を調べたが無効であった。この SC 115 も乳癌ではあるが、著者が実験に使用してきたような定型的な癌細胞でなく、恐らく筋上皮細胞に由来した紡錘形の形態を有する肉腫様の特殊癌があるので他日報告したい。

現在、SSM 注射を受けている患者の大部分は癌患者であり、肉腫患者は極めて少ない。SSM が著効を奏した特殊例として脳腫瘍 (glioma) 等の報告²³⁾があるが、これらは神経膠細胞由来で腫瘍細胞自らも collagen を産生するし、間質反応も強いので SSM 治療対照腫瘍として注目しているので後日研究の予定である。

次に SSM 注射の効果発現に重要なのは、その治療期間である。広く臨床治験例を観察すれば、癌末期患者で1カ月ないし3カ月間の短期間の注射では、痛みの解消、全身状態の改善は驚くべきものがあるが、治験3カ月の短期間では病理組織学的に SSM 有効性を判定する所見は乏しい。多くの場合、少なくとも6カ月から1年以上を経て徐々に驚くべき効果を見ることが SSM の特徴である。このことについても剖検例をふくめて後日報告したい。

恐るべき癌ではあるが、体内に発生した癌腫

と言えども、発癌から死に至るまでは、いかに急性であろうとも、往々、動物実験で移植肉腫に見られるような1週間または3~4週での致死癌と言うものは極めてまれで、少なくとも発癌から死に至るまでを考えると癌は慢性疾患である。特に、今日治験薬として許可されている SSM の濃度 (A, B: $2\mu\text{g}$ — $0.2\mu\text{g}/\text{ml}$ 多糖体) では、短期間、かつ数日で即効的な抗腫瘍性を発揮するものではない。しかし、反面 SSM は副作用が全くないため長期間使用できるということに極めて重要な抗癌効果を発揮することを改めて強調しておきたい。

したがって、担癌生体の低下した免疫細胞を正常閾以上に賦活化するというよりも、癌進展につれて低下しつづける免疫細胞の機能を、たゆみなく正常化へと快復に導く作用こそ重要であると考えている。²⁴⁾ 副作用もなく、長年月にわたって注射可能のために、癌の進行に伴って低下する担癌体の不断の免疫機能を正常化に保つことは特筆すべきで、低下した免疫状態が正常化へと復するために、体内の癌細胞に対する認識の機構も正常化することが重要と考える。このことは結核病巣の乾酪物質の吸収、瘢痕化への進展と同じように、癌細胞により破壊された組織の修復機転の促進が起こり、修復に重要な collagen 増殖が促進されることも考えられ、今後の課題と考えている。

本論文に紹介した SSM 治験例の乳癌患者治験症例 II でも担癌個体で放出される石田らの Immunosuppressive acidic protein (IAP)^{25), 26)} が SSM の長期間の使用で著しい減少が見られたことや、柳、矢田ら²⁴⁾ の担癌体の低下したリンパ球の正常化が SSM 注射で見られたことは報告されているが、担癌体の正常化への免疫基盤の回復とともに癌細胞放出物質の減少が間接的に collagen 増殖の促進につながる可能性も考えている。今後、さらに解明しなければならない問題である。

今回使用した SSM は臨床的に使用されている SSM-A ($2\mu\text{g}/\text{ml}$) の 100 倍高濃度液であり、ヌードマウスのような免疫不全動物で、かつまた、結核感染の既往のない状態においても

抗癌作用には間質の collagen, 癌細胞自らの collagen 増殖 (collagen type は後述) によって癌抑制効果が見られることを報告してきたが、ヒトの場合、多くの患者はツ氏反応陽性で結核の免疫状態にあるので SSM-A の低濃度でもマウス等とちがって著しい感受性のあることは言うまでもない。しかし、100 倍濃度の SSM は全く副作用もなく、今回の実験で著効のあることがわかった。臨床治験を期待して止まない。

さて、我が国における結核病は第二次世界大戦の戦前、戦後にわたり熾烈をきわめ、前途有為なる若い人々をはじめ、幾多の貴重な日本人の命を奪った。したがって、当時、日本における結核病理学の研究は世界の先端を走った。著者の恩師の一人である故田部浩岡山大学名誉教授も故岡治道東京大学名誉教授とともに肺における鎖骨下浸潤の病理学的研究から結核の再感染説を否定するなど結核病理学は学会の主流を独占した。その結核研究の華やかなりし戦後間もなく、山村雄一大阪大学学長は結核菌に関係するいろいろの未知の問題の中で、生化学的な技法をはじめて導入し、結核菌に含まれる proteolipide で結核臨床において、最も重要な問題の一つである結核空洞の pathogenesis^{27)~29)}を究明し、世界の脚光をあびた研究は今日なお、著者の印象に新しい。このような結核菌体にまつわる「光」と「影」を考えると、丸山のヒト結核菌多糖体が癌間質の collagen 増殖を促進し、ひいては癌増殖抑制に働き、癌を閉じ込め、癌の癒痕治癒への pathogenesis を考えるとき、あらためて、丸山ワクチンはヒト結核の治癒機転を促進する「光」とも考えられ、結核の治癒と癌の治癒との因果関係は必ずしも無関係ではないと考える。

このように菌体多糖体成分が直接的に collagen 生合成の代謝に関与しているのか、免疫基盤の正常への回復、特に担癌体内のかつての結核感染による免疫リンパ球の活性化^{1), 2)}によって、癌破壊部が創傷治癒や潰瘍治癒に見られるような修復機転と同じように、非特異的に修復が促進されるのか、今後増殖した collagen type I, II, III, IV の分布状態とも併せて検討の予定である。

本論文の要旨は The 2nd European Conference on Clinical Oncology and Cancer Nursing, Amsterdam, 2-5, November, 1983 において発表した。

謝 辞

貴重な SSM 治験例の生検組織をいただいた岡山労災病院外科、古本雅彦、石原弘道、津田昭次、原田英樹、間野正之博士、および臨床病理、樋口修三、竹内裕二技官に深謝いたします。SSM 100 倍液はゼリヤ新薬工業株式会社開発部、高橋政雄企画部長、和田誠一郎氏から御恵与をうけ厚く御礼申し上げます。

組織培養では川崎医科大学実験病理、土田由美子、平尾優子、組織培養センター、風早智美研究補助員の御協力を得た。顕微鏡写真プリントに関しては同センターの北昭子技術員の御協力を得たことを感謝します。

ヌードマウス供給は本学動物飼育センター、北徳飼育主任、電顕撮影では本学組織電子顕微鏡センター、上平賢三主任、組織切片作製に関しては同センター、吉田陽子、若林かずみ研究補助員、組織培養免疫センター、立古文恵技術員の御協力を得たことをあらためて感謝いたします。

なお研究費は川崎医科大学プロジェクト研究費；癌増殖抑制、59-201の支援を受けるとともに、御長女（東京最高裁判所勤務）を癌で失われた服部孝恵氏（小金井市本町2丁目20-18）の篤志によったことを心から感謝いたします。

文 献

- 1) Kimoto, T.: Collagen and stromal proliferation as preventive mechanisms against cancer invasion by purified polysaccharides from human tubercle bacillus (SSM). *Cancer Detect. Prev.* 5: 301-314, 1982
- 2) 木本哲夫：人型結核菌体抽出多糖体成分 (S. S. M.: 丸山ワクチン) の抗癌作用に関する研究。癌間質コラーゲン増殖による癌細胞「封じ込め」について。川崎医会誌 10: 286-304, 1984

- 3) 木本哲夫：人型結核菌体抽出多糖体 (S. S. M.: 丸山ワクチン) の抗癌作用に関する研究. 癌細胞膜分子構築の変化に伴う間質反応とコラーゲン増殖 collagenesis. 川崎医学会誌 10: 445—464, 1984
- 4) Akagi, T. and Kimoto, T.: Human cell line (HGC) derived from the metastatic lymph node of gastric cancer. *Acta Med. Okayama* 30: 215—217, 1976
- 5) Akagi, T. and Kimoto, T.: Establishment and characteristics cell lines of human lung adenocarcinoma cell line. *Gann* 67: 483—492, 1976
- 6) Kimoto, T., Naito, Y., Nishioka, Y. and Hyodoh, F.: Collagen fiber formation and promotive proliferation as cancer prevention by polysaccharides extracted from human tubercle bacilli (SSM). *Cancer Detect. Prev.* 1985 (in press)
- 7) Anoprun, D. H. and Folkman, J.: Migration and proliferation of endothelial cells in pre-formed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc. Res.* 14: 53—65, 1977
- 8) 癌や関節炎のマーカーとして期待される新生血管誘発因子. *Medical Tribune*, Oct. 7, 1982, pp. 16—17
- 9) Raju, K. S., Alessandri, G., Ziche, M. and Gullino, P. M.: Ceruloplasmin, copper ions, and angiogenesis. *J. N. C. I.* 69: 1183—1188, 1982
- 10) Ziche, M., Jones, J. and Gullino, P. M.: Role of prostaglandin E, and copper in angiogenesis. *J. N. C. I.* 69: 475—482, 1982
- 11) 木本哲夫, 横林英一, 高田為行, 多田広詞, 田中明輔, 妹尾左知丸: 腫瘍細胞の細胞認識と貪食. 細胞生物シンポ 23. 東京, 丸善. 1972, pp. 241—250
- 12) 木本哲夫: 組織培養と人癌研究への応用 (招請講演). 西日泌尿41: 1—17, 1979
- 13) Kimoto, T., Ueki, A. and Nishitani, K.: Phagocytosis of lymphoblastoid cells and cell destruction of human malignant tumor cells. *Acta Pathol. Jpn.* 25: 99—114, 1975
- 14) 植木絢子, 木本哲夫: 線維芽細胞 fibroblast と生体防御—多彩な生物学的活性をめぐって—. 医のあゆみ 113: 385—390, 1980
- 15) 兵藤文則, 植木絢子, 木本哲夫: 線維芽細胞の熱処理バクテリア貪食に関する電顕的観察. 医のあゆみ 115: 827—829, 1980
- 16) Ueki, A., Fukushima, Y. and Kimoto, T.: C₃b and C₃d receptor sites on human diploid fibroblast. *Virchows Arch. [Cell Pathol.]* 21: 13—15, 1976
- 17) Ueki, A., Fukushima, Y. and Kimoto, T.: The effect of dexamethasone on the functioning of C₃ receptor sites on the surfaces of human fibroblasts. *Virchows Arch. [Cell Pathol.]* 22: 315—321, 1976
- 18) Ueki, A., Fukushima, Y., Hyodoh, F. and Kimoto, T.: C₃b and C₃d receptor sites on human fibroblasts derived from several human tissues. *Virchows Arch. [Cell Pathol.]* 27: 155—157, 1978
- 19) 山村雄一: 抗癌免疫—その進歩と反省. 第41回総会 (大阪). 日癌総会記事 1, 1982
- 20) 竹内 実, 木本 実, 田代康夫, 鈴木伊豆美, 野本亀久雄: BCG 感作マウスの MC-1 腫瘍に対する抗腫瘍効果及びその effector cell に関する研究. 日癌総会記事 439, 1981
- 21) 竹内 実, 木本 実, 鈴木伊豆美, 野本亀久雄: 腫瘍抗原特異的キラーT細胞誘導の BCG 感作による増強効果. 癌と化学療法 10: 1980—1986, 1983
- 22) 森田 光, 時田尚志, 田中 昇, 木本 実, 有村廣子, 上野哲夫, 岡本嘉六, 藤村真示: 固型腫瘍に対する化学療法の実験的研究. *Lewis Lung Carcinoma* に対して. 癌と化学療法 8: 1216—1226, 1981
- 23) 平井敏之, 藤田敬四郎, 後藤博一, 仲地紀良, 丸山千里: 原発性脳腫瘍の治療に応用された丸山ワクチンの成績. 日本医事新報 2853: 21—24, 1978
- 24) 柳 忠道, 矢田純一: In vitro および In vivo における S. S. M. の免疫賦活効果について. 日癌治 15: 972—979, 1980

- 25) 石田名香雄, 田村啓二, 柴田芳美: 免疫抑制酸性蛋白の性状と癌患者における検出意義. 医のあゆみ 115: 423—433, 1980
- 26) 松田好史, 本木宏昭, 北目文郎, 石田名香雄: 担癌マウス血清中に発見された免疫抑制活性を示す酸性蛋白. 医のあゆみ 102: 747—749, 1977
- 27) Yamamura, Y., Yasaka, S., Yamaguchi, M., Endo, K., Iwakura, H., Nakamura, S. and Ogawa, Y.: Studies on the experimental tuberculous cavity: I. The experimental formation of the tuberculous cavity in the rabbit lung. Med. J. Osaka Univ. 5: 187—197, 1954
- 28) Yamamura, Y., Yasaka, S., Nakamura, S., Ogawa, Y., Yamaguchi M., Endo, K. and Iwakura, H.: Studies on the experimental tuberculous cavity. II. The experimental formation of tuberculous cavity in rabbit lung by killed tubercle bacilli. Med. J. Osaka Univ. 6: 197—203, 1955
- 29) 山村雄一: 胸部疾患シリーズ ① 結核生化学の進歩. 東京, 世界保健通信社. 1959